

CONFOCAL MICROSCOPE

for IDS

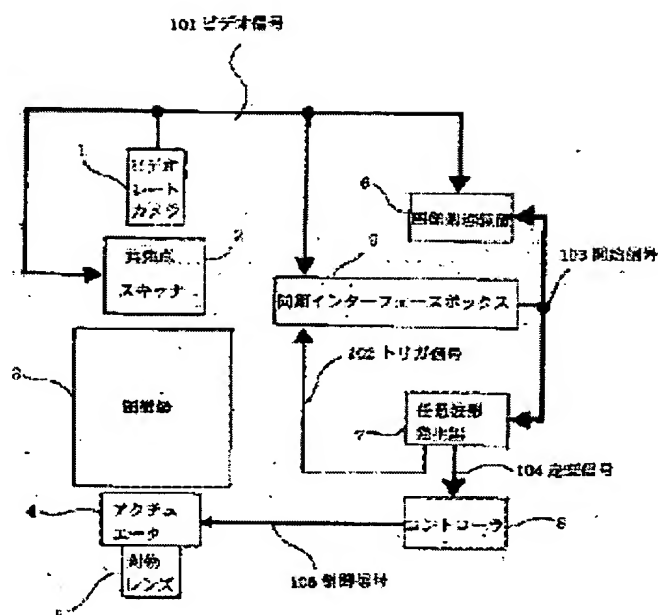
Patent number: JP2002072102
Publication date: 2002-03-12
Inventor: TOMOSADA NOBUHIRO; KAWAMURA SHINICHIRO;
 OTSUKI SHINYA
Applicant: YOKOGAWA ELECTRIC CORP
Classification:
 - international: G02B21/36; G02B21/00; G02B26/10
 - european:
Application number: JP20000265338 20000901
Priority number(s):

Abstract of JP2002072102

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a confocal microscope which provides sliced images with high reliability.

SOLUTION: The confocal microscope inputs an image of a specimen into a video-rate camera 1 through an objective lens 5, an actuator 4, a microscope 3, and a confocal scanner 2. The video-rate camera 1 inputs a video signal 101 into the confocal scanner 2, a synchronous interface box 9, and an image processing device 6. An arbitrary waveform generator 7 generates a trigger signal 102.

The synchronous interface box 9 inputs a starting signal 103, which is generated based on the video signal 101 and the trigger signal 102, into the image processing device 6 and the arbitrary waveform generator 7. The rotational synchronous control of the confocal scanner 2, the starting timing for video signal acquisition by the image processing device 6, and the starting timing for scanning the focal point of the objective lens 5 are wholly synchronized.



Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-72102

(P2002-72102A)

(43) 公開日 平成14年3月12日 (2002.3.12)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テーマコード(参考)

G 0 2 B 21/36

G 0 2 B 21/36

2 H 0 4 5

21/00

21/00

2 H 0 5 2

26/10

26/10

A

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願2000-265338(P2000-265338)

(22) 出願日 平成12年9月1日(2000.9.1)

(71) 出願人 000006507

横河電機株式会社

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号

(72) 発明者 友定 伸浩

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河
電機株式会社内

(72) 発明者 河村 信一郎

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河
電機株式会社内

(72) 発明者 大槻 真也

東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河
電機株式会社内

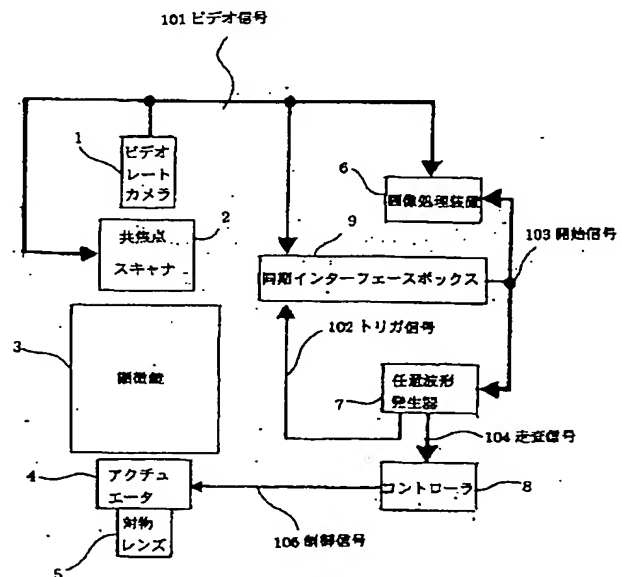
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 共焦点顕微鏡

(57) 【要約】

【課題】 信頼性の高いスライス画像が得られる共焦点顕微鏡を提供する。

【解決手段】 共焦点顕微鏡は、対物レンズ5、アクチュエータ4、顕微鏡3、及び、共焦点スキャナ2を経由して、試料からの像をビデオレートカメラ1に入力する。ビデオレートカメラ1は、ビデオ信号101を共焦点スキャナ2、同期インターフェイスボックス9、及び、画像処理装置6に入力する。任意波形発生器7は、トリガ信号102を発生する。同期インターフェイスボックス9は、ビデオ信号101及びトリガ信号102に基づいて発生する開始信号103を画像処理装置6及び任意波形発生器7に入力する。共焦点スキャナ2の回転同期制御、画像処理装置6によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、対物レンズ5の焦点位置の走査開始のタイミングは、全て同期する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ニボウディスクを有し試料の像を共焦点画像として取得する共焦点スキャナと、前記共焦点画像をビデオ信号に変換するビデオレートカメラと、前記ビデオ信号を画像データに変換する画像処理装置と、対物

レンズの焦点位置を制御し前記共焦点スキャナで取得する画像の焦点方向の深さ位置を指定する光学制御系とを備え、試料のスライス画像を取得する共焦点顕微鏡において、

前記ニボウディスクの回転同期制御、前記画像処理装置によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、前記光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査開始のタイミングを、前記ビデオ信号に同期して行うことを特徴とする共焦点顕微鏡。

【請求項 2】 ニボウディスクを有し試料の像を共焦点画像として取得する共焦点スキャナと、前記共焦点画像をビデオ信号に変換するビデオレートカメラと、前記ビデオ信号を画像データに変換する画像処理装置と、対物

レンズの焦点位置を制御し前記共焦点スキャナで取得する画像の焦点方向の深さ位置を指定する光学制御系とを備え、試料のスライス画像を取得する共焦点顕微鏡において、

外部信号にตอบสนองして、前記ビデオレートカメラによるビデオ信号の生成、前記ニボウディスクの回転同期制御、前記画像処理装置によるビデオ信号の取得、及び、前記光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査を開始することを特徴とする共焦点顕微鏡。

【請求項 3】 前記光学制御系は、対物レンズの焦点位置を制御するピエゾアクチュエータを備える、請求項 1 又は 2 に記載の共焦点顕微鏡

【請求項 4】 前記画像処理装置は、画像データを記録媒体の画像領域に記録し、前記対物レンズの焦点位置の走査開始タイミングを前記記録媒体の音声領域に記録する、請求項 1～3 の何れかに記載の共焦点顕微鏡。

【請求項 5】 前記記録媒体がビデオテープである、請求項 4 に記載の共焦点顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、共焦点顕微鏡に関し、より詳細には、高精度の共焦点画像を記録し、画像解析を容易にする共焦点顕微鏡に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 共焦点顕微鏡は、ピンホールを用いて空間分解能を高めるニボウディスク方式を採用することにより、光を微少なピンポイントに絞って試料に照射し、

試料からの余分な散乱光やボケを排除して、3次元空間中の1点を正確に計測できる。共焦点顕微鏡は、試料を超薄切片にすることなく断面（スライス）画像が得られ、スライス画像データから正確な三次元立体像を構築できるので、生物及びバイオテクノロジーの分野にお

ける生きた細胞の生理反応観察・形態観察や半導体市場におけるLSIの表面観察に使用される。

【0003】 図4は、従来の共焦点顕微鏡のブロック図である。共焦点スキャナ2は、顕微鏡3のカメラポートに取り付けられ、顕微鏡3、アクチュエータ4、及び、対物レンズ5を経由して、試料の像を共焦点画像としてビデオレートカメラ1に入力し、画像を観測する。ビデオレートカメラ1は、変換したビデオ信号101を共焦点スキャナ2及び画像処理装置6に入力する。画像処理装置6は、ビデオ信号101を画像データに変換し記録するキャプチャを開始する。共焦点スキャナ2は、ビデオ信号101に同期して、回転同期制御を行う。任意波形発生器7は、コントローラ8に走査信号104を入力し、コントローラ8は、走査信号104に基づいて制御信号105を発生し、アクチュエータ4を制御する。アクチュエータ4は、顕微鏡3に対する対物レンズ5の光軸上の位置を調整する。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 画像処理装置6のキャプチャの開始と任意波形発生器7の走査信号104の発生は、独立に行われる。ビデオ信号101が発生する画像生成タイミング、共焦点スキャナ2による回転同期制御、画像処理装置6によるキャプチャの開始タイミング、及び、任意波形発生器7による画像の焦点方向の走査の開始タイミングは、相互に同期しない。このため、画像処理装置6による画像取得の開始タイミング、及び、任意波形発生器7による画像の焦点方向の走査の開始タイミングは、データ取得時間が最大で32msecのバラツキがあり、個々の共焦点画像の取得時間のバラツキを生じるので、複数の共焦点画像から得られるスライス画像の信頼性が低下する。

【0005】 本発明は、上記したような従来の技術が有する問題点を解決するためになされたものであり、信頼性の高いスライス画像が得られる共焦点顕微鏡を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】 上記目的を達成するために、本発明の共焦点顕微鏡は、ニボウディスクを有し試料の像を共焦点画像として取得する共焦点スキャナと、前記共焦点画像をビデオ信号に変換するビデオレートカメラと、前記ビデオ信号を画像データに変換する画像処理装置と、対物レンズの焦点位置を制御し前記共焦点スキャナで取得する画像の焦点方向の深さ位置を指定する光学制御系とを備え、試料のスライス画像を取得する共焦点顕微鏡において、前記ニボウディスクの回転同期制御、前記画像処理装置によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、前記光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査開始のタイミングを、前記ビデオ信号に同期して行うことを特徴とする。

【0007】 本発明の共焦点顕微鏡は、ニボウディスク

の回転同期制御、画像処理装置によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査開始のタイミングが、全てビデオ信号に同期することにより、共焦点画像の位置精度が向上し、複数のスライス画像を取得する際に個々の取得時間のバラツキが無くなるので、信頼性の高いスライス画像が得られる。

【0008】また、本発明の共焦点顕微鏡は、ニボウディスクを有し試料の像を共焦点画像として取得する共焦点スキャナと、前記共焦点画像をビデオ信号に変換するビデオレートカメラと、前記ビデオ信号を画像データに変換する画像処理装置と、対物レンズの焦点位置を制御し前記共焦点スキャナで取得する画像の焦点方向の深さ位置を指定する光学制御系とを備え、試料のスライス画像を取得する共焦点顕微鏡において、外部信号にตอบสนองして、前記ビデオレートカメラによるビデオ信号の生成、前記ニボウディスクの回転同期制御、前記画像処理装置によるビデオ信号の取得、及び、前記光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査を開始することの特徴とする。

【0009】本発明の共焦点顕微鏡は、外部信号を発生する装置が、共焦点スキャナを制御することにより、ニボウディスクの回転数を任意に変換できる。

【0010】本発明の共焦点顕微鏡では、前記光学制御系は、対物レンズの焦点位置を制御するピエゾアクチュエータを備えることが好ましい。この場合、光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査が高速で高精度になる。

【0011】また、本発明の共焦点顕微鏡では、前記画像処理装置は、画像データを記録媒体の画像領域に記録し、前記対物レンズの焦点位置の走査開始タイミングを前記記録媒体の音声領域に記録することが好ましい。この場合、記録媒体の音声領域に記録したレンズの焦点位置の走査開始タイミングをサーチすることにより、スライス画像の先頭フレームを検出できるので、記録したスライス画像の解析や編集が容易になる。

【0012】前記記録媒体がビデオテープであることも本発明の好ましい態様である。この場合、画像処理装置にビデオデッキを採用することにより、スライス画像の長時間記録が可能なシステムを容易に構成できる。

【0013】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施形態例に基づいて、本発明の共焦点顕微鏡について図面を参照して説明する。図1は、本発明の第1実施形態例の共焦点顕微鏡のブロック図である。本実施形態例の共焦点顕微鏡は、ビデオレートカメラ1、共焦点スキャナ2、顕微鏡3、アクチュエータ4、対物レンズ5、画像処理装置6、任意波形発生器7、コントローラ8、及び、同期インターフェイスボックス9で構成される。

【0014】ビデオレートカメラ1、共焦点スキャナ

2、顕微鏡3、アクチュエータ4、及び、対物レンズ5は、同じ光軸上に配置される。共焦点スキャナ2は、2万個のピンホールを持つニボウディスク、及び、それに対応するマイクロレンズアレイを有し、シンプルな光学系から成るニボウディスク方式が採用されるコンパクトなアドオンタイプである。共焦点スキャナ2を顕微鏡3のカメラポートに取り付けることにより、手持ちの顕微鏡3を共焦点顕微鏡にグレードアップする。共焦点顕微鏡は、対物レンズ5、アクチュエータ4、及び、顕微鏡3を経由して、試料の像を共焦点スキャナ2に入力する。共焦点スキャナ2は、試料の像から共焦点画像を作成し、ビデオレートカメラ1に入力して、画像観測が行われる。

【0015】図2は、図1の共焦点顕微鏡が取り扱う各種信号のタイムチャートである。ビデオレートカメラ1は、共焦点画像をビデオ信号101に変換し、共焦点スキャナ2、同期インターフェイスボックス9の信号入力端子、及び、画像処理装置6の画像入力端子にビデオ信号101を入力する。共焦点スキャナ2は、ビデオ信号101に同期して、ニボウディスクの回転同期制御を行う。

【0016】画像処理装置6にビデオテープデッキを採用する場合、ビデオテープデッキは、画像入力端子から入力されるビデオ信号101、及び、音声入力端子から入力される開始信号103を長時間用のビデオテープに同時に記録する。また、開始信号103に代えて走査信号104を記録することもでき、デジタルビデオテープデッキを採用すれば、スーパーインポーズ等の画像入力領域以外の別の領域に開始信号103を記録することもできる。ビデオテープには、リアルタイムに変化する共焦点画像、及び、対物レンズ5の焦点位置の走査開始のタイミングが同時に記録される。この場合、記録媒体の音声領域に記録した対物レンズの焦点位置の走査開始タイミングをサーチすることにより、スライス画像の先頭フレームを検出できるので、記録したスライス画像の解析や編集が容易になる。また、画像処理装置にビデオデッキを採用すれば、スライス画像の長時間記録が可能なシステムを容易に構成できる。

【0017】同期インターフェイスボックス9は、ビデオ信号101の偶数側パルス列又は奇数側パルス列の何れか一方を抽出し、内部A信号を作成する。任意波形発生器7は、Hレベルのパルス信号であるトリガ信号102を発生し、同期インターフェイスボックス9のトリガ入力端子に入力して、焦点面の走査の開始タイミングに利用する。

【0018】同期インターフェイスボックス9は、トリガ信号102の立下りに同期して、内部B信号を作成する。内部B信号は、Hレベルのパルス幅時間が3.5msec程度有し、ビデオレートカメラ1のビデオレートの時間に比して若干長いパルス信号である。同期インター

フェイスボックス 9 は、内部 A 信号の反転信号と内部 B 信号とを論理積演算することにより、開始信号 103 を発生し、画像処理装置 6 及び任意波形発生器 7 の同期入力端子に入力する。画像処理装置 6 は、同期入力端子からの開始信号 103 の立上りに同期して、ビデオ信号 101 を画像データに変換し記録するキャプチャを開始する。同期インターフェイスボックス 9 は、信号入力端子からのビデオ信号 101 に基づいて、共焦点スキャナ 2 によるニポウディスクの回転同期制御、画像処理装置 6 によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、光学制御系による対物レンズの焦点位置の走査開始のタイミングを全て同期させる。

【0019】上記構成に代えて、ビデオ信号 101 を発生する画像生成のタイミングが外部からの外部トリガ信号に同期するビデオレートカメラ 1（例えば、デジタルカメラ）を採用する場合、外部装置は、開始信号 103 に代えて、外部トリガ信号をビデオレートカメラ 1、画像処理装置 6、及び、任意波形発生器 7 に入力して、画像生成のタイミング、ニポウディスクの回転同期制御、ビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、対物レンズの焦点位置の走査開始のタイミングを同期する。共焦点スキャナ 2 は、外部装置からの制御に基づいて、任意に回転数が可変される。この場合、同期インターフェイスボックス 9 を除くことができ、外部装置からの制御により、共焦点スキャナの同期回転数が変化する。

【0020】任意波形発生器 7 は、開始信号 103 の立上りに同期して、光学制御系による対物レンズ 5 の焦点位置の走査を開始する。任意波形発生器 7 は、走査信号 104 を発生し、コントローラ 8 に入力する。走査信号 104 は、L レベルから H レベルまで一定時間で直線的に増加するノコギリ波状の信号である。コントローラ 8 は、走査信号 104 をアクチュエータ 4 に入力する。アクチュエータ信号 105 は実際のアクチュエータの位置信号であり、伸びきってから一気に原点に戻ったあとにオーバーシュートがあり、この間は不感帯となる。

【0021】アクチュエータ 4 は、顕微鏡 3 の対物レンズレボルバーと対物レンズ 5 との間に取り付けられ、ピエゾ駆動により走査信号 104 のレベルに比例して画像の焦点方向の長さが変化し、対物レンズ 5 の焦点位置を制御する。共焦点顕微鏡は、走査信号 104 に基づいて、焦点面を走査することにより、試料のスライス画像を取得する。

【0022】上記実施形態例によれば、ニポウディスクの回転同期制御、画像処理装置によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、光学制御系によるレンズの焦点位置の走査開始のタイミングが、全てビデオ信号に同期することにより、共焦点画像の位置精度が向上し、複数のスライス画像を取得する際に個々の取得時間のバラツキが無くなるので、信頼性の高いスライス画像が得られる。

【0023】図 3 は、本発明の第 2 実施形態例の共焦点顕微鏡が取り扱う各種信号のタイムチャートである。本実施形態例は、先の実施形態例の画像処理装置 6 にパーソナルコンピュータを採用する。パーソナルコンピュータは、画像を記録するビデオキャプチャボード、ビデオキャプチャボードをコントロールする制御ソフトウェア、一時的な記録媒体の RAM、及び、周辺記憶装置のハードディスク（HDD）を有する。また、周辺記憶装置は、DVD、CD-RW、又は、MO であってもよい。

【0024】パーソナルコンピュータは、時刻 t_0 の開始信号 103 の立上りに同期して、第 1 回目の画像記録を開始する。入力するビデオ信号 101 から p 枚数分の画像データに変換し、画像データを RAM に一時的に記録して、RAM への記録が完了する時刻 t_1 に、RAM 上の画像データを HDD に転送する。HDD への記録が完了する時刻 t_2 に、第 1 回目の画像記録を終了する。第 2 回目の画像記録は、上記と同様にして、時刻 t_2 に開始し、時刻 t_4 に終了する。

【0025】時間 T_a は、ビデオ信号 101 から p 枚数分の画像データに変換し、RAM に記録する処理時間であり、指定する画像データの枚数 p によって決定する。時間 T_b は、RAM 上の画像データを HDD に転送する転送時間であり、RAM 上の画像データの大きさ、及び、HDD ヘッドスキャン時間によって決定する。時間 T_a 及び T_b は、予め測定され、トリガ信号 102 の周期 T_c は、 $T_c = T_a + T_b$ として設計される。

【0026】現在の RAM で使用できる記憶領域の大きさは、せいぜい 1 GB 程度である。例えば、画像が画面サイズに $640 \times 480 \text{ pixel}$ を有し、階調に 8 bit のグレースケールレベルを有する場合、この画像をビデオレートで取り込むと、記録可能時間が約 90 sec になり、特に生物の動態観察において満足できない場合がある。また、画像圧縮により記録可能時間を長くすると、画質の低下や画像データの欠落が生じる。このため、一時的に記録した RAM 上の画像データを周辺記憶装置に転送する。

【0027】また、パーソナルコンピュータに市販の画像解析ソフトウェアを搭載すれば、取得したスライス画像から正確な三次元立体構造を再構築することが可能になり、画像解析の操作性も向上する。

【0028】上記実施形態例によれば、一時的に記録した RAM 上の画像データを周辺記憶装置に転送することにより、リアルタイムに収集した共焦点画像から画像解析できるので、長時間のタイムラプス測定が可能になる。

【0029】以上、本発明をその好適な実施形態例に基づいて説明したが、本発明の共焦点顕微鏡は、上記実施形態例の構成にのみ限定されるものでなく、上記実施形態例の構成から種々の修正及び変更を施した共焦点顕微

鏡も、本発明の範囲に含まれる。

【 0 0 3 0 】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の共焦点顕微鏡では、ニポウディスクの回転同期制御、画像処理装置によるビデオ信号の取得の開始タイミング、及び、光学制御系によるレンズの焦点位置の走査開始のタイミングが、全てビデオ信号に同期することにより、共焦点画像の位置精度が向上し、複数のスライス画像を取得する際に個々の取得時間のバラツキが無くなるので、信頼性の高いスライス画像が得られる。

【００３１】また、外部信号を発生する装置が、共焦点スキャナを制御することにより、ニポウディスクの回転数を任意に可変できる。

【図面の簡単な説明】

【図１】本発明の第１実施形態例の共焦点顕微鏡のブロック図である。

【図2】図1の共焦点顕微鏡が取り扱う各種信号のタイムチャートである。

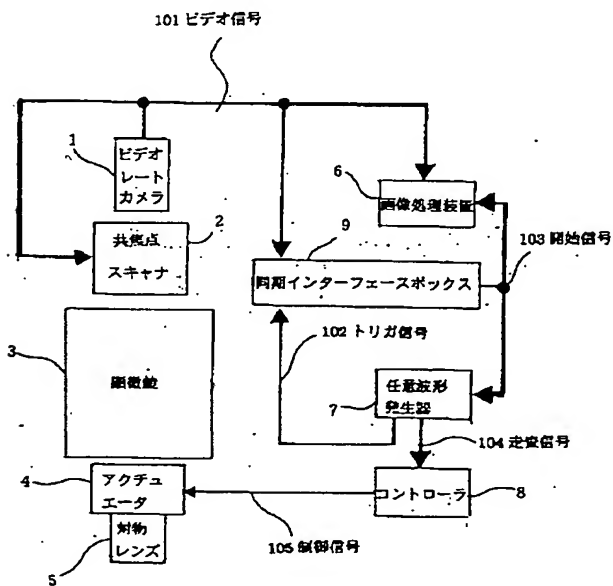
【図 3】本発明の第 2 実施形態例の共焦点顕微鏡が取り扱う各種信号のタイムチャートである。

【図4】従来の共焦点顕微鏡のブロック図である。

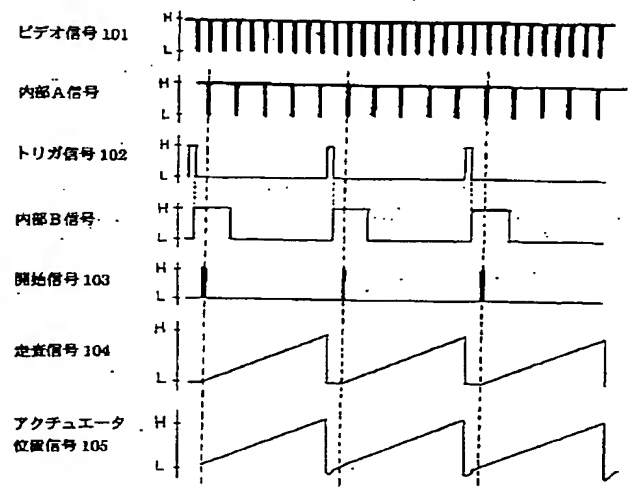
【符号の説明】

- | | | |
|----|-----|----------------|
| 05 | 1 | ビデオレトカメラ |
| | 2 | 共焦点スキャナ |
| | 3 | 顕微鏡 |
| | 4 | アクチュエータ |
| | 5 | 対物レンズ |
| 10 | 6 | 画像処理装置 |
| | 7 | 任意波形発生器 |
| | 8 | コントローラ |
| | 9 | 同期インターフェイスボックス |
| | 101 | ビデオ信号 |
| 15 | 102 | トリガ信号 |
| | 103 | 開始信号 |
| | 104 | 走査信号 |
| | 105 | アクチュエータ信号 |

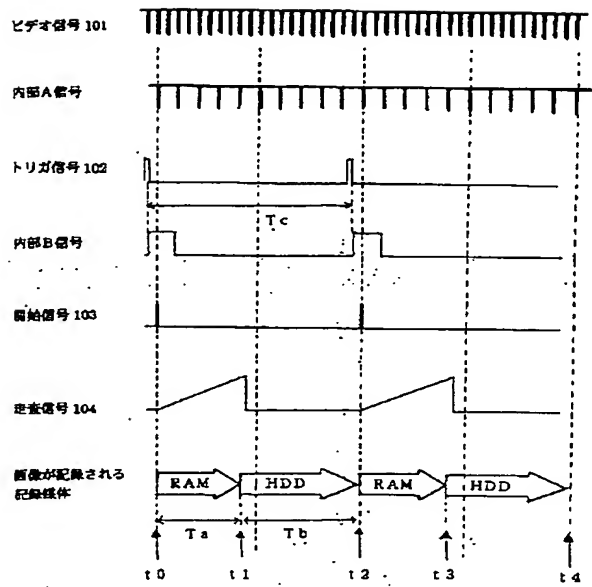
【図 1】



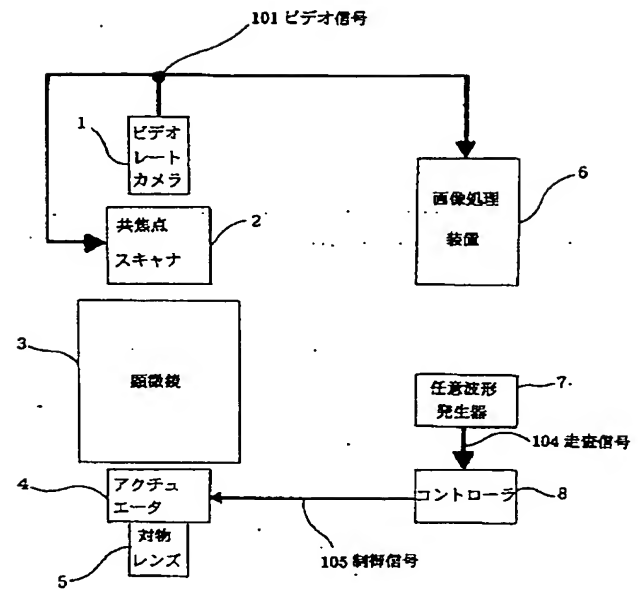
【图 2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2H045 AG00 BA13 CA98 DA31
 2H052 AA08 AC15 AD06 AD33 AF14
 AF25

25